

# 靶向抑制 miRNA-21 对 K562 细胞增殖及 PTEN-PI3K/AKT 通路的影响

刘梦涵 杨琳 刘小军 聂子元 罗建民

**【摘要】** 目的 研究靶向抑制 miRNA-21 表达对 K562 细胞生物学功能的影响,观察其对 PTEN-PI3K/AKT 通路相关分子表达水平的影响,探讨其在白血病发病机制中的作用。方法 将化学合成的 miRNA-21 抑制物电转染 K562 细胞,RT-PCR 检测 K562 细胞 miRNA-21 表达变化,MTT 法检测 miRNA-21 对 K562 细胞活力影响,流式细胞术分析 miRNA-21 对 K562 细胞凋亡的影响,应用 Western blot 技术检测 K562 细胞中 PTEN、PI3K 及 p-AKT 蛋白表达水平。结果 转染 24 h 实验组 miRNA-21 mRNA 相对表达水平为  $(8.070 \pm 5.138)\%$ , 低于各对照组 ( $P < 0.05$ )。转染 24 h 实验组 K562 细胞凋亡率为  $(13.370 \pm 0.250)\%$ , 高于各对照组 ( $P < 0.01$ )。实验组 K562 细胞的增殖抑制率由转染后 24 h 的  $(8.1 \pm 0.9)\%$  升至 60 h 的  $(43.1 \pm 2.1)\%$ 。成功抑制 miRNA-21 表达后,与对照组相比,K562 细胞凋亡增加 ( $P < 0.01$ ),细胞中 PTEN 蛋白表达上调 ( $P < 0.01$ ),PI3K 及 p-AKT 蛋白表达下调 ( $P < 0.01$ )。结论 靶向抑制 K562 细胞 miRNA-21 可以上调 PTEN 表达而抑制 PI3K/AKT 信号通路,发挥其抑制 K562 细胞增殖及促进凋亡作用。

**【关键词】** miRNA-21; K562 细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡; PTEN 磷酸水解酶

**Targeted suppression of miRNA-21 inhibit K562 cells growth through PTEN-PI3K/AKT signaling pathway** Liu Menghan, Yang Lin, Liu Xiaojun, Nie Ziyuan, Luo Jianmin. Department of Hematology, The Second Affiliated Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China  
Corresponding author: Luo Jianmin, Email: luojm315@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the K562 cells biological function and related molecular changes in PTEN-PI3K/AKT signaling pathway of leukemia K562 cells by inhibiting the miRNA-21 expression to explore its pathogenesis of leukemia. **Methods** The chemical synthetic miRNA-21 inhibitor was transferred into K562 cells by electrotransfection. RT-PCR was used to detect the miRNA-21 expression changes. Cell proliferation and apoptosis were determined by using MTT and flow cytometry. Western-blot were used to detect the protein expression changes of PTEN, PI3K and p-AKT respectively. **Results** The relative expression of miRNA-21 in experimental group was  $(8.070 \pm 5.138)\%$  at 24 hours, which was lower than control groups ( $P < 0.05$ ). The apoptotic rate of  $(13.370 \pm 0.250)\%$  at 24 hours in experimental group was obviously higher than control groups. The cellular proliferation were significantly different at 24 hours. The proliferation inhibition rate was  $(8.1 \pm 0.9)\%$  at 24 hours, which was up to  $(43.1 \pm 2.1)\%$  at 60 hours, but the control groups showed no difference. K562 cell proliferation significantly decreased, while cell apoptosis markedly increased by inhibiting miRNA-21 expression ( $P < 0.01$ ). Western-blot analysis revealed up-regulation of PTEN and down-regulation of PI3K and p-AKT protein expressions after successfully suppressed miRNA-21 expression ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Inhibiting miRNA-21 expression in K562 cell could suppress the PI3K/AKT pathway by up-regulation of PTEN expression and promote cell antiproliferative and pro-apoptosis effects.

**【Key words】** miRNA-21; K562 cells; Cell proliferation; Apoptosis; PTEN phosphohydrolase

微小 RNA (miRNA) 是一类长度为 19~25 个

核苷酸的非编码单链 RNA 分子。miRNA 表达具有明显的组织细胞特异性,且与肿瘤的发生发展密切相关<sup>[1]</sup>。miRNA-21 是 miRNA 家族的重要成员之一,可通过调控其靶基因参与的信号通路影响肿瘤的发生发展,发挥类似于癌基因或抑癌基因的功能。人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同

源的基因(PTEN)为已知的抑癌基因,为 miRNA-21 靶基因之一<sup>[2]</sup>。PTEN 基因可以通过其磷酸酶活性阻断细胞因子介导的信号转导通路,如磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3K)/丝-苏氨酸激酶(AKT)信号途径,从而抑制肿瘤细胞的生长、侵袭和转移,促进肿瘤细胞凋亡<sup>[3]</sup>。目前,对于抑制 miRNA-21 表达对 K562 细胞生物学功能影响的研究甚少,且 miRNA-21 与 PTEN-PI3K/AKT 通路在白血病发病中的作用机制尚不明确。本研究中,我们观察靶向抑制 K562 细胞中 miRNA-21 表达对 PTEN-PI3K/AKT 通路中相关分子表达的影响,探讨其在白血病发病机制中的作用。

### 材料与方 法

1. 主要材料与试剂:miRNA-21 抑制物(含绿色荧光素 FAM)及其阴性对照由广州复能基因公司合成并验证;细胞培养基 RPMI 1640 购自美国 Gibco 公司;胎牛血清(FBS)购自杭州四季青公司;细胞总 RNA 提取试剂 TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司;MTT 试剂盒、磷酸盐缓冲液(PBS)购自美国 Sigma 公司;Annexin V 和碘化丙锭(PI)购自瑞士 Roche 公司;RT-PCR 试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司;miRNA-21 及内参 U6 引物、PTEN 及内参 ACTB 引物均购自广州复能基因有限公司;鼠抗人 PTEN 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司;兔抗人 PI3K 多克隆抗体、兔抗人 p-AKT 多克隆抗体、兔抗人 GAPDH 多克隆抗体购自美国 Cell Signaling 公司。MiRNA-21 抑制物由广州复能基因有限公司合成(5'-UCAACAUCAGUCUGUAAGCUA-3')。

2. 细胞培养:将 K562 细胞(由本实验室保存)接种于含 10% FBS、青霉素 100 mg/L、链霉素 100 mg/L 的 RPMI 1640 培养基中,置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,每 1~2 d 换液传代,实验选用对数生长期细胞。

3. 实验分组:①K562NC 组:空白对照组(未处理的 K562 细胞);②K562MI 组:转染 miRNA-21 抑制物;③K562NM 组:转染随机序列(长度与 miRNA-21 抑制物相同)对照;④K562FAM 组:转染荧光素 FAM 对照。

4. 细胞电转染:取 1×10<sup>6</sup>/ml K562 细胞,加入 400 μl 电转缓冲液和 200 nmol miRNA-21 抑制物,应用 BTX ECM830 电转染仪转染(300 V、60 ms、2 次)。转染后细胞用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液培养。在转染 24 h 后采用荧光倒置显微镜观

察细胞形态并提取细胞总 RNA 行 RT-PCR 检测,60 h 后提取细胞总蛋白行 Western blot 检测。

5. 荧光显微镜观察细胞转染效率:转染 24 h 后收集细胞,于荧光倒置显微镜下观察,计数荧光素 FAM 表达阳性细胞及视野内全部细胞数量,按以下公式计算转染率:

$$\text{转染率}(\%) = \frac{\text{表达荧光素 FAM 细胞数}}{\text{总细胞数}} \times 100\%$$

6. RT-PCR 检测 miRNA-21 抑制率:检测转染后细胞 miRNA-21 表达变化,细胞总 RNA 提取及逆转录反应按照说明书进行,引物序列如下:miRNA-21 上游引物:5'-CACCTAGCTTATCAGACTGATGTTGATTTTTTG-3',下游引物:5'-AGCTCAAAAATCAACATCAGTCTGATAAGCTA-3';内参 U6 上游引物:5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3',下游引物:5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'。PCR 反应条件:预变性 95 ℃ 10 min 1 个循环;变性 95 ℃ 10 s,退火 56 ℃ 20 s,延伸 72 ℃ 15 s,40 个循环。实验设 3 个复孔,重复 3 次。

7. MTT 法检测转染后 K562 细胞的增殖情况:取各组 1×10<sup>6</sup>/ml K562 细胞,接种于 96 孔无菌培养板中(每孔 200 μl),于转染后 12、24、36、48、60 h 检测 K562 细胞的增殖情况。每次测定时孔中加入 10 mg/ml MTT 液 10 μl,孵育 4 h 后用平板离心机离心 10 min(2 500×g),弃上清,再加入 200 μl 二甲亚砜终止反应,用全自动酶标仪测定 490 nm 处吸光度(A)值。实验重复 3 次,结果取均值。按以下公式计算细胞增殖抑制率。根据时间及增殖抑制率值绘制生长曲线。

$$\text{细胞增殖抑制率}(\%) = (1 - \frac{A_{\text{实验组}}}{A_{\text{对照组}}}) \times 100\%$$

8. 流式细胞术检测转染后细胞凋亡:转染 48 h 后,收集 1×10<sup>6</sup>/ml K562 细胞,用 PBS 吹打洗涤 2 次,离心后弃上清,加入 500 μl 1×Binding Buffer 重悬细胞,并加入 5 μl Annexin V-FITC 及 10 μl PI,混匀后避光室温孵育 10 min,上机分析细胞凋亡情况。

9. Western blot 法检测各组细胞 PTEN、PI3K、AKT 和 p-AKT 蛋白表达:用细胞蛋白提取试剂盒提取各组细胞总蛋白,行 SDS-PAGE 分离蛋白(90 V 30 min,120 V 1 h)。电泳结束后以电转移法将蛋白从凝胶转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,用 5% BSA 液封闭,依据膜面积计算抗体体积,分别加入 PTEN、PI3K、p-AKT 对应一抗(稀释比例分别为 1:300、1:500、1:500)室温孵育 1 h,然后再加入对应二抗(1:10 000)室温孵育 1 h,最后将 PVDF 膜用

ECL 化学发光试剂盒处理并显影,检测阳性蛋白的表达水平。实验重复3次。

10. 统计学处理:采用SPSS 13.0统计软件对实验结果进行统计学分析。计量资料用均数±标准差表示,各组间比较采用方差分析及q检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

### 结 果

1. 转染率测定:通过荧光倒置显微镜观察转染后细胞形态变化,转染后24 h的部分K562细胞发出绿色荧光信号,部分细胞膨胀,细胞壁有皱褶或破损,形态完整(图1)。转染率为(53.4±3.2)%。

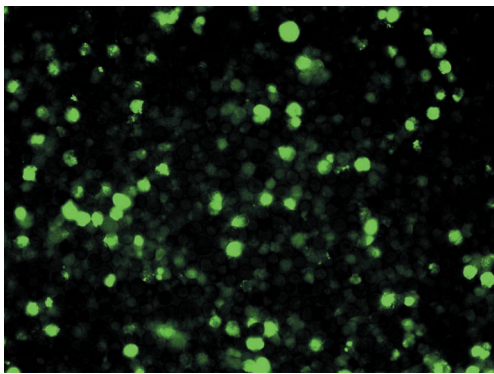
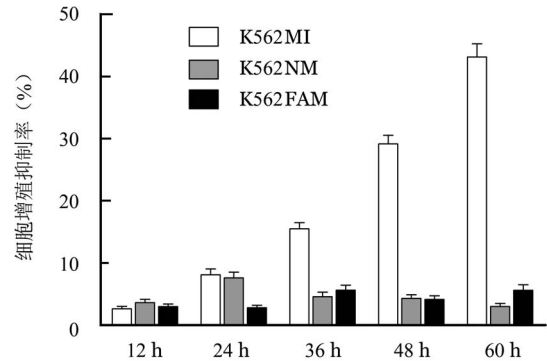


图1 转染后第24 h荧光倒置显微镜观察K562细胞形态(×400)

2. RT-PCR检测转染后各组细胞miRNA-21表达:K562MI、K562NM、K562FAM组miRNA-21表达水平分别为K562NC组的(8.070±5.138)%、(91.600±2.452)%、(92.247±2.053)%,表明miRNA-21抑制物成功转染K562细胞并下调miRNA-21表达。

3. MTT法检测靶向抑制miRNA-21表达对K562细胞增殖的影响:转染24、36、48、60 h,K562MI组细胞增殖抑制率均高于K562NM、

K562FAM组( $P < 0.05$ )。随着时间延长,K562MI组细胞增殖抑制率逐渐增高( $P < 0.05$ ),由转染24 h的(8.1±0.9)%升至60 h的(43.1±2.1)%,表明靶向抑制miRNA-21可以抑制K562细胞增殖。K562NM、K562FAM两组随着时间延长细胞增殖抑制率无明显变化( $P > 0.05$ )。详见图2。

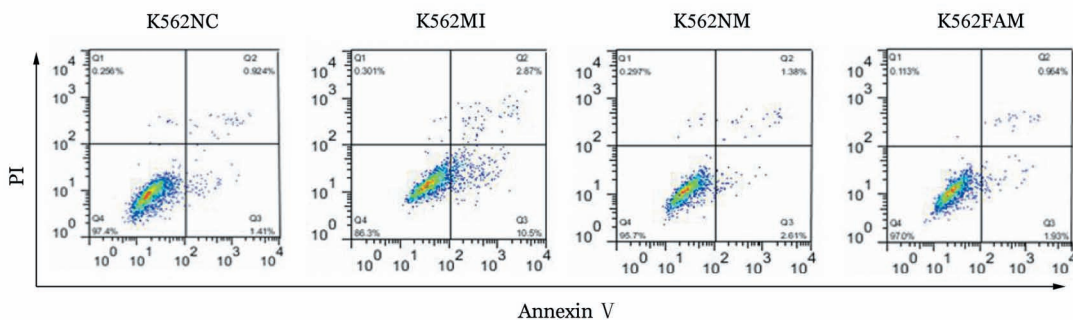


K562MI组:转染miRNA-21抑制物;K562NM组:转染随机序列对照(长度与miRNA-21抑制物相同);K562FAM组:转染荧光素FAM对照

图2 靶向抑制miRNA-21表达对K562细胞增殖的影响(实验重复3次)

4. 流式细胞术检测靶向抑制miRNA-21表达对K562细胞凋亡的影响:转染48 h后K562NC、K562MI、K562NM及K562FAM组细胞凋亡率分别为(2.334±0.263)%、(13.370±0.250)%、(3.990±0.436)%、(2.894±0.352)%,K562MI组细胞凋亡率高于其他三组( $P < 0.01$ ),提示下调miRNA-21表达可以促进K562细胞凋亡(图3)。

5. 靶向抑制miRNA-21表达对K562细胞PTEN-PI3K/AKT通路蛋白表达的影响:Western blot检测显示(以GADPH作为内参照):K562MI组较其他3组细胞PTEN蛋白表达上调,PI3K及p-AKT蛋白表达下调,差异均有统计学意义( $P <$



K562NC组:空白对照组(未处理K562细胞);K562MI组:转染miRNA-21抑制物;K562NM组:转染随机序列对照(长度与miRNA-21抑制物相同);K562FAM组:转染荧光素FAM对照

图3 流式细胞术检测靶向抑制miRNA-21表达对K562细胞凋亡的影响

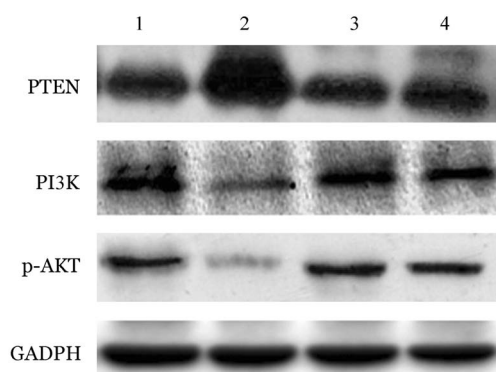


0.05)(表1、图4),说明靶向抑制 miRNA-21 表达可以实现对 PTEN-PI3K/AKT 相关基因蛋白水平调控。

表1 靶向抑制 miRNA-21 表达对 K562 细胞 PTEN-PI3K/AKT 通路蛋白表达水平影响( $\bar{x}\pm s$ )

组别	PTEN	PI3K	p-AKT
K562NC	4.911±0.450	3.343±0.201	3.040±0.094
K562MI	14.701±0.810 <sup>a</sup>	1.015±0.122 <sup>a</sup>	0.463±0.080 <sup>a</sup>
K562NM	4.733±0.524	3.220±0.111	3.628±0.103
K562FAM	4.271±0.682	3.439±0.098	3.447±0.139

注:K562NC组:空白对照;K562MI组:转染 miRNA-21 抑制物;K562NM组:转染随机序列对照(长度与 miRNA-21 抑制物相同);K562FAM组:转染荧光素 FAM 对照。与其他3组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$



1: K562NC 组(空白对照);2: K562MI 组(转染 miRNA-21 抑制物);3: K562NM 组(转染随机序列对照);4: K562FAM 组(转染荧光素 FAM 对照)

图4 转染 miRNA-21 抑制物对 K562 细胞 PTEN、PI3K、AKT、p-AKT 蛋白表达的影响

## 讨论

miRNA 能够与靶向特异性的碱基互补配对,导致靶 mRNA 降解或者抑制靶基因翻译,从而实现对基因转录后表达调控,发挥癌基因或抑癌基因作用<sup>[4]</sup>。miRNA-21 由 17q23.2 染色体 FRA17B 脆性区域编码而成,具有自主转录功能<sup>[5]</sup>。miRNA-21 可以调控靶基因的 mRNA 和蛋白表达,而这些靶基因具有调控细胞增殖、分化、迁移、侵袭等功能<sup>[6]</sup>。已知 miRNA-21 在多种恶性肿瘤中表达升高,如恶性胶质瘤、乳腺癌、肺癌、直肠癌、卵巢癌、膀胱癌及食管癌等<sup>[7-9]</sup>。miRNA-21 在白血病发病中的作用尚未明确。吴共发等<sup>[10]</sup>发现下调 miRNA-21 表达可抑制 K562 细胞的迁移及增殖能力。朱雪姣等<sup>[11]</sup>亦发现抑制 miRNA-21 可以增加 K562 细胞对阿糖胞苷的敏感性、诱导细胞凋亡。本研究通过化学合成 miRNA-21 抑制物,经电转染方式靶向抑制

miRNA-21 的表达,操作简单且实验周期短。在靶向抑制 K562 细胞 miRNA-21 表达后,流式细胞术检测发现 K562 细胞早期凋亡率明显升高,MTT 法检测显示 K562 细胞活力随转染时间的延长逐渐下降,表明靶向抑制 miRNA-21 对 K562 细胞具有促凋亡、抑制增殖的作用。

在多种肿瘤中,PTEN 均为 miRNA-21 的靶基因,两者之间存在负性调控趋势,提示 miRNA-21 可能通过调控 PTEN 表达影响肿瘤的发生,而 PTEN 基因作为一种抑癌基因,具有磷酸酯酶活性及蛋白酪氨酸激酶活性<sup>[12]</sup>。PTEN 的表达主要受 miRNA (如 miRNA-21)、磷酸化、乙酰化、泛素化等转录后调控。研究显示,PTEN 可以抑制慢性髓性白血病细胞增殖、侵袭,促进其凋亡<sup>[13]</sup>。Maehama 等<sup>[14]</sup>发现 PTEN 可致 PI3K 的产物磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸(PIP3)脱磷酸,维持 PIP3 的低水平,从而介导 AKT 的活化,下调 PI3K/AKT 通路表达,活化的 AKT 可以激活多种下游底物,导致肿瘤细胞增殖和耐药,影响肿瘤细胞表型功能,与诊断及预后密切相关,而总 AKT 表达并无明显变化。本研究中,通过 RT-PCR 分析发现,miRNA-21 与 PTEN 表达呈负相关,在进一步抑制白血病细胞系 K562 细胞 miRNA-21 表达后,转染组 PTEN 蛋白表达水平显著上调,活性恢复。鉴于 PTEN 作为一种磷酸酶基因,可以抑制肿瘤细胞生长或是使细胞在早期进入程序性死亡,从而推测 miRNA-21 可以通过调控 PTEN 基因表达促进 K562 细胞的早期凋亡。

以往研究表明,白血病患者 PI3K 及磷酸化的 AKT 水平明显高于正常人<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示,抑制 miRNA-21 后转染组 p-AKT 蛋白表达水平显著下调,总 AKT 水平无明显变化,说明 miRNA-21 通过增强 PTEN 活性而负性调控 AKT 活化,进而影响 K562 细胞的增殖及凋亡,提示这可能是 PTEN-PI3K/AKT 信号通路在白血病发病机制中的重要途径。本研究中,我们发现 PI3K 的蛋白表达也出现下调,考虑不排除 miRNA-21 下调通过其他途径影响 PI3K 表达或对 PI3K 酶活性产生影响,其具体作用机制有待进一步研究。本实验结果显示 PTEN 基因的蛋白水平变化幅度较大,考虑 p-AKT 的变化主要还是由于 PTEN 的作用导致。

本实验结果表明,抑制 K562 细胞 miRNA-21 表达可以调控 PTEN-PI3K/AKT 通路相关分子表达。但是 miRNA 对应多个靶基因,且 miRNA 在肿瘤中的调控存在表观调控网络。因此,miRNA-21 对于

细胞生物学特性的影响是否通过PTEN-PI3K/AKT通路实现有待进一步研究,其对PTEN-PI3K/AKT的作用机制尚需进一步明确。

#### 参考文献

- [1] Tang J, Li Y, Wang J, et al. Molecular mechanisms of microRNAs in regulating epithelial-mesenchymal transitions in human cancers[J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(2):301-313. doi: 10.1016/j.canlet.2015.11.043.
- [2] Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, et al. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer[J]. *Gastroenterology*, 2007, 133(2):647-658. doi:10.1053/j.gastro.2007.05.022.
- [3] López-Knowles E, O'Toole SA, McNeil CM, et al. PI3K pathway activation in breast cancer is associated with the basal-like phenotype and cancer-specific mortality[J]. *Int J Cancer*, 2010, 126(5):1121-1131. doi: 10.1002/ijc.24831.
- [4] Khalaj M, Tavakkoli M, Stranahan AW, et al. Pathogenic microRNA's in myeloid malignancies[J]. *Front Genet*, 2014, 5: 361. doi: 10.3389/fgene.2014.00361.
- [5] Fujita S, Ito T, Mizutani T, et al. miR-21 Gene expression triggered by AP-1 is sustained through a double-negative feedback mechanism[J]. *J Mol Biol*, 2008, 378(3):492-504. doi: 10.1016/j.jmb.2008.03.015.
- [6] Gabriely G, Wurdinger T, Kesari S, et al. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(17):5369-5380. doi: 10.1128/MCB.00479-08.
- [7] Shi R, Wang PY, Li XY, et al. Exosomal levels of miRNA-21 from cerebrospinal fluids associated with poor prognosis and tumor recurrence of glioma patients[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 26971-26981. doi: 10.18632/oncotarget.4699.
- [8] Wu ZH, Tao ZH, Zhang J, et al. MiRNA-21 induces epithelial to mesenchymal transition and gemcitabine resistance via the PTEN/AKT pathway in breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(6):7245-7254. doi: 10.1007/s13277-015-4604-7.
- [9] Yang Y, Meng H, Peng Q, et al. Downregulation of microRNA-21 expression restrains non-small cell lung cancer cell proliferation and migration through upregulation of programmed cell death 4[J]. *Cancer Gene Ther*, 2015, 22(1):23-29. doi: 10.1038/cgt.2014.66.
- [10] 吴共发, 黄绮亭, 曾宇婷, 等. miR-21通过PTEN/AKT通路抑制白血病细胞K562的迁移和增殖[J]. *医学研究生学报*, 2013, 26(10):1037-1040.
- [11] 朱雪姣, 李育敏, 谷景义, 等. 靶向抑制miRNA-21提高白血病K562细胞对阿糖胞苷的敏感性[J]. *生命科学研究*, 2011, 15(4):317-322.
- [12] Polisenio L, Pandolfi PP. PTEN ceRNA networks in human cancer[J]. *Methods*, 2015, 77-78: 41-50. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.01.013.
- [13] 张弘, 杨良春, 曹励之, 等. 上调PTEN基因表达对白血病耐药细胞系K562/ADM细胞化疗增敏作用的实验研究[J]. *中华血液学杂志*, 2012, 33(5): 412-416. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2012.05.015.
- [14] Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(22):13375-13378. doi: 10.1074/jbc.273.22.13375.
- [15] 成志勇, 万建设, 王亚丽, 等. PTEN基因对慢性粒细胞白血病Survivin、Xiap、Smac调控的研究[J]. *中华医学杂志*, 2011, 91(40):2868-2872. doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2011.40.018.
- [16] Cheng Z, Yang N, Liang W, et al. Effect of phosphatase and tensin homology deleted on chromosome 10 (PTEN) gene transfection on reversal of multidrug resistance in K562/ADM cells[J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53(7):1383-1389. doi: 10.3109/10428194.2011.650695.

(收稿日期:2016-03-10)

(本文编辑:徐茂强)

·读者·作者·编者·

### 关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时,只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然,在医学的许多领域,国内的研究水平确实有待提高,有引用国外文献的必要。但是,不引用国内相关文献,将存在以下问题:①作者没有阅读国内文献,这样作者阅读的文献就不全面,作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献,就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展,毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献,但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂,如轻视或忽略国内同行,或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述,均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性,鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部